

30.10.03

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

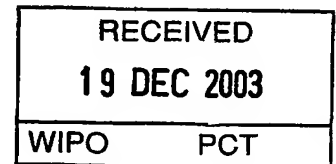
別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日
Date of Application: 2002年11月 1日

出 願 番 号
Application Number: 特願2002-320295
[ST. 10/C]: [JP2002-320295]

出 願 人
Applicant(s): アークレイ株式会社

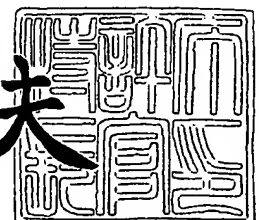


PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2003年12月 4日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今 井 康 夫



【書類名】 特許願

【整理番号】 P14-388Y01

【提出日】 平成14年11月 1日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 G01N 27/00
G01N 33/48

【発明の名称】 試料調整測定用具

【請求項の数】 11

【発明者】

【住所又は居所】 京都府京都市南区東九条西明田町 5 7 アークレイ株式会社内

【氏名】 山岡 秀亮

【発明者】

【住所又は居所】 京都府京都市南区東九条西明田町 5 7 アークレイ株式会社内

【氏名】 勝木 幸治

【特許出願人】

【識別番号】 000141897

【住所又は居所】 京都府京都市南区東九条西明田町 5 7

【氏名又は名称】 アークレイ株式会社

【代理人】

【識別番号】 100086380

【弁理士】

【氏名又は名称】 吉田 稔

【連絡先】 0 6 - 6 7 6 4 - 6 6 6 4

【選任した代理人】

【識別番号】 100103078

【弁理士】

【氏名又は名称】 田中 達也

【選任した代理人】

【識別番号】 100105832

【弁理士】

【氏名又は名称】 福元 義和

【選任した代理人】

【識別番号】 100117167

【弁理士】

【氏名又は名称】 塩谷 隆嗣

【選任した代理人】

【識別番号】 100117178

【弁理士】

【氏名又は名称】 古澤 寛

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 024198

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 0103432

【ブルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 試料調整測定用具

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 固体成分を含んだ試料液を移動させ、かつ液相反応場を提供するための流路と、上記液相反応場に対して電圧を印加するための第 1 および第 2 の電極と、を備え、上記第 1 の電極が、上記第 1 および第 2 の電極を介して上記液相反応場に対して電圧を印加したときに、上記液相反応場に対して電子を供給し、あるいは上記液相反応場から電子を受け取るための電子授受界面を有する分析用具であって、

少なくとも上記液相反応場における上記電子授受界面と接触する部分での固体成分の濃度を高めるための固体成分高濃度化手段を備えたことを特徴とする、試料調整測定用具。

【請求項 2】 上記固体成分高濃度化手段は、吸水性高分子材料を含んだ吸水層により構成されている、請求項 1 に記載の試料調整測定用具。

【請求項 3】 上記第 1 および第 2 の電極が形成された基板と、この基板に積層されたカバーと、を備えている、請求項 2 に記載の試料調整測定用具。

【請求項 4】 上記吸水層は、少なくとも上記カバーにおける上記電子授受界面と対面する部分に膜形成されている、請求項 3 に記載の試料調整測定用具。

【請求項 5】 上記吸水層は、上記カバーを、上記吸水性高分子材料を含むものとして形成することにより、上記カバーにより構成されている、請求項 3 に記載の試料調整測定用具。

【請求項 6】 上記吸水層は、上記カバーに対して上記吸水性高分子を含む粉末を担持させた構成とされている、請求項 3 に記載の試料調整測定用具。

【請求項 7】 上記吸水層は、上記電子授受界面を囲むように上記基板上に形成されている、請求項 3 に記載の試料調整測定用具。

【請求項 8】 上記吸水層は、上記電子授受界面よりも上記流路における上記試料液の流れ方向の下流側に設けられている、請求項 3 に記載の試料調整測定用具。

【請求項 9】 上記吸水性高分子材料は、10～500 g/g の吸水能力を

有している、請求項 2 ないし 8 のいずれかに記載の試料調整測定用具。

【請求項 10】 上記固体成分高濃度化手段は、上記電子授受界面よりも上記流路における上記試料液の移動方向の下流側に設けられ、かつ上記固体成分の移動を阻害するためのダム部により構成されている、請求項 1 に記載の試料調整測定用具。

【請求項 11】 上記試料液は、血球を含む血液である、請求項 1 ないし 10 のいずれかに記載の試料調整測定用具。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、血液などの試料液中の特定成分（たとえばグルコースやコレステロール）の濃度を測定するために使用される試料調整測定用具に関する。

【0002】

【従来の技術】

試料液中の特定成分の濃度を測定する方法としては、たとえば電気化学的手法を利用したものがある。この方法では、たとえば試料液、酸化還元酵素および電子伝達物質により反応系を構築する一方で、この反応系に対して電極を利用して電圧を印加し、そのときの応答電流値に基づいて特定成分の濃度が演算される。このような反応系は、たとえば酸化還元酵素や電子伝達物質を含む試薬部が設けられたバイオセンサにおいて構築される。反応系では、酸化還元酵素の触媒作用により特定成分と電子伝達物質の酸化還元反応が生じるため、還元型（あるいは酸化型）とされた電子伝達物質の量は特定成分の濃度を反映したものとなる。応答電流は、反応系において生じた還元型（あるいは酸化型）の電子伝達物質と、電極との間での電子移動量に相関するものとして得られる。したがって、応答電流値の測定精度が濃度測定精度に大きく影響を与えることとなる。

【0003】

このような手法では、たとえば試料液として全血（血球を含んだ状態の血液）を使用した場合には、血液中の血球が電極の表面に多数存在した場合に、血球によって電極と電子伝達物質との間の電子移動が阻害されてしまう。その結果、測

定される応答電流値は、血球数の増加に伴い低値となり、測定誤差を生じてしまう。また、血液における血球の割合（ヘマトクリット値）が異なれば、グルコース濃度が同じであっても測定される応答電流値が異なったものになってしまう。

【0004】

そのため、測定用具において血液中の血球を分離する方法が提案されている。血球を分離する方法としては、たとえば測定用具における血液などの試料液を導入する部分に分離膜を設ける方法（たとえば特許文献1-2参照）、あるいは電極の表面を高分子膜により覆う方法がある（たとえば特許文献3-5参照）。

【0005】

【特許文献1】

特開平8-114539号公報（第5-6頁、第16-17図）

【特許文献2】

特表2002-508698号公報（第22-24頁、第1D図）

【特許文献3】

特開平6-130023号公報（第4-5頁）

【特許文献4】

特開平9-243591号公報（第2-3頁）

【特許文献5】

特開2000-338076号公報（第2-3頁、第1図）

【0006】

【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、測定用具において血球を濾過する方法では、血漿成分を分離膜に透過させる必要があるために血漿が電極の表面に到達するまでの時間が長くなって測定時間が長くなる。このような不具合を解消するためには使用すべき全血の量を多く確保すればよいが、この場合には使用者の採血の負担が大きくなる。

【0007】

本発明は、このような事情のもとに考えだされたものであって、試料液中の固体成分の影響を抑制し、測定時間を短く維持しつつも、少ない試料液によって精度良く濃度測定を行うことを課題としている。

【0008】

【発明の開示】

本発明では上述した課題を解決するために次の技術的手段を講じている。すなわち、本発明では、固体成分を含んだ試料液を移動させ、かつ液相反応場を提供するための流路と、上記液相反応場に対して電圧を印加するための第1および第2の電極と、を備え、上記第1の電極が、上記第1および第2の電極を介して上記液相反応場に対して電圧を印加したときに、上記液相反応場に対して電子を供給し、あるいは上記液相反応場から電子を受け取るための電子授受界面を有する分析用具であって、少なくとも上記液相反応場における上記電子授受界面と接触する部分での固体成分の濃度を高めるための固体成分高濃度化手段をさらに備えたことを特徴とする、試料調整測定用具が提供される。

【0009】

固体成分高濃度化手段は、たとえば吸水性高分子材料を含んだ吸水層や血球の分離膜を存在させることにより構成される。

【0010】

本発明の試料調整測定用具は、たとえば第1および第2の電極が形成された基板と、この基板に積層されたカバーと、を備えたものとして構成される。

【0011】

吸水層は、たとえば少なくともカバーにおける電子授受界面と対面する部分に膜形成される。このような吸水層は、たとえば吸水性高分子材料を溶媒に溶かした塗布剤を、基板の目的部位に塗布した後に、溶媒を蒸発させることにより形成することができる。吸水層は、吸水性高分子材料を用いてシート材を形成し、このシート材をカバーに貼着することにより形成することもできる。

【0012】

吸水層は、カバーを、吸水性高分子材料を含むものとして形成することにより、カバーにより構成してもよい。このような吸水層は、たとえば吸水性高分子材料を、非吸水性樹脂材料に練り込んで成形材料とし、この成形材料を用いて樹脂成形を行うことにより形成することができる。

【0013】

吸水層は、カバーに対して吸水性高分子材料を含む粉末を担持させた構成とされていてもよい。この粉末は、吸水性高分子材料のみにより構成されていてもよいし、吸水性高分子材料と他の材料により構成されていてもよい。このような吸水層は、両面テープを利用して形成することができる。すなわち、上記吸水層は、両面テープの一方の面に吸水性高分子材料を含む粉末を担持させるとともに、両面テープの他方の面をカバーに貼り付けることにより形成することができる。

【0014】

吸水層は、電子授受界面を囲むようにして形成してもよく、また電子授受界面よりも流路における上記試料液の流れ方向の下流側に形成してもよい。これらの構成では、吸水層は、基板およびカバーのいずれに形成してもよく、また水溶性および水不溶性のいずれに形成してもよい。

【0015】

本発明において使用される吸水性高分子材料は、本発明の目的を達成できる程度に液体成分を吸水することができ、またその吸水量は測定結果に影響を与えない量でなければならない。このため、吸水性高分子材料としては、10～500 g/gの吸水能力を有するものを使用するのが好ましい。

【0016】

固体成分高濃度化手段は、電子授受界面よりも流路における上記試料液の流れ方向の下流側に設けられ、かつ固体成分の移動を阻害するためのダム部により構成してもよい。ダム部は、たとえば基板やカバーに非水溶性あるいは難水溶性の凸部を設けることにより形成される。

【0017】

本発明の試料調整測定用具において測定対象となる試料液としては、典型的には、固体成分としての血球を含む血液が挙げられる。もちろん、上記試料調整測定用具は、固体成分を含む試料液に広く使用でき、測定対象となる試料液は血液には限定されない。

【0018】

【発明の実施の形態】

以下、本発明の好ましい実施の形態について、図面を参照して具体的に説明す

る。

【0019】

まず、図1ないし図5を参照し、本発明の第1の実施の形態について、血糖値を測定する場合を例にとって説明する。

【0020】

図1ないし図4に示したバイオセンサ1は、血液中のグルコース濃度を測定するために使用されるものであり、図5を参照して後述する濃度測定装置2に装着して使用するものである。このバイオセンサ1は、長矩形状の基板3に対して、一対のスペーサ40、41を介してカバー5を積層した構成を有しており、これらの要素3、40、41、5によってキャピラリ6が形成されている。キャピラリ6は、毛細管現象を利用して、端部開口60から導入された血液を移動させ、かつその内部流路61に血液を保持するためのものであり、その内部流路61が基板3の短手方向に延びるように設けられている。キャピラリ6の端部開口62は、内部流路61において血液を進行させる際に、内部流路61の気体を排出するために利用される。

【0021】

一対のスペーサ40、41は、基板3に対してカバー5を接合するとともに、キャピラリ6の内部流路61の寸法を規定するためのものである。一対のスペーサ40、41は、基板3の短手方向に延びるようにして、かつ基板3の長手方向に間隔を隔てて配置されている。

【0022】

基板3は、長矩形状の形態を有しており、基板3の上面30には、基板3の長手方向に延びる作用極31および対極32が形成されている。基板3の上面30にはさらに、作用極31および対極32を一連に横断するようにして試薬部33が設けられている。作用極31および対極32における試薬部33と接触する部分は、電子授受部31a、32aを構成している。試薬部33は、たとえば酸化還元酵素および電子伝達物質を含む固体状に形成されている。酸化還元酵素としては、たとえばグルコースオキシターゼやグルコースデヒドロゲナーゼが使用される。電子伝達物質は、電圧の印加や反応により酸化あるいは還元されるもので

あり、血糖値の測定においては、電子伝達物質として、たとえばフェリシアン化カリウムが使用される。本実施の形態では、電子伝達物質は、血液を供給する前の段階では酸化型として含有されているものとする。

【0023】

図2および図3に示したように、カバー5の片面50には、吸水層51が形成されている。この吸水層51は、カバー5の片面50において、作用極31における内部流路61に位置する電子授受部分31aと対面するように形成されている。このような吸水層51は、吸水性高分子材料を含んだ吸水シートをカバー5に貼着することにより形成することができる。この吸水層51は、たとえば非吸水時における厚み寸法が内部流路61の高さ寸法Hの $1/30 \sim 1/10$ 、吸水時における厚み寸法が内部流路61の高さ寸法Hの $1/5 \sim 3/5$ となるように形成される。

【0024】

吸水性高分子材料としては、たとえば吸水能力が $10 \sim 500 \text{ g/g}$ のものが使用される。より具体的には、吸水性高分子材料としては、たとえばアクリル酸塩重合体架橋物、ビニルアルコール-アクリル酸塩共重合体の架橋物、無水マレイン酸グラフトポリビニルアルコール架橋物、架橋イソブチレン-無水マレイン酸共重合体、カルボキシメチルセルロースのアルカリ塩架橋物、ポリアクリル酸部分中和物架橋体を使用することができる。吸水層51は、全体が吸水性高分子材料により形成されていてもよいし、吸水性高分子材料と他の非吸水性高分子材料とを混合した層として形成してもよい。吸水層51は、易水溶性の層として形成してもよく、この易水溶性の吸水層は、たとえば吸水性高分子材料を溶剤に溶かした溶液をカバー5に塗布した後に、これを乾燥させることにより形成することができる。

【0025】

一方、濃度測定装置2は、図5に示したように、第1および第2端子20a、20b、電圧印加部21、電流値測定部22、検知部23、制御部24、演算部25および表示部26を備えている。第1および第2端子20a、20bは、濃度測定装置2に対してバイオセンサ1を装着した場合に、バイオセンサ1におけ

る作用極 31 および対極 32 の端部 31b, 32b に接触させるためのものである。

【0026】

電圧印加部 21 は、第 1 および第 2 の端子 20a, 20b を介して、バイオセンサ 1 の作用極 31 と対極 32 との間に電圧を印加するためのものである。電圧印加部 21 は、第 1 および第 2 端子 20a, 20b と電氣的に繋げられている。電圧印加部 21 は、たとえば乾電池あるいは充電池などの直流電源を備えたものとして構成される。

【0027】

電流値測定部 22 は、電圧印加部 21 によって作用極 31 および対極 32 の端部 31b, 32b の間に電圧を印加したときの電流値を測定するためのものである。

【0028】

検知部 23 は、濃度測定装置 2 にバイオセンサ 1 が装着された後において、電流値測定部 22 によって測定された電流値に基づいて、試薬部 33 (図 1 ないし図 3 参照) に試料液が供給されたか否かを検知するためのものである。

【0029】

制御部 24 は電圧印加部 21 を制御し、作用極 31 および対極 32 の間に電圧が印加される状態と印加されない状態とを選択するためのものである。

【0030】

演算部 25 は、電流値測定部 22 において測定された電流値に応じて、血糖値を演算するためのものである。演算部 25 は、たとえば血糖値をアンペロメトリックな手法に基づいて演算できるように構成されている。

【0031】

検知部 23、制御部 24 および演算部 25 のそれぞれは、たとえば CPU およびメモリ (たとえば ROM や RAM) により構成されるが、検知部 23、制御部 24 および演算部 25 の全てを、1 つの CPU に対して複数のメモリを接続することにより構成することもできる。

【0032】

表示部 26 は、演算部 25 による演算結果の他、たとえばエラーである旨や操作手順などを表示するためのものであり、たとえば液晶表示装置により構成されている。

【0033】

次に、バイオセンサ 1 および濃度測定装置 2 を用いた血糖値の測定の手順について説明する。

【0034】

図 5 に良く表れているように、まず濃度測定装置 2 にバイオセンサ 1 をセットする。そうすると、バイオセンサ 1 の作用極 31 および対極 32 の端部 31b, 32b が濃度測定装置 2 の第 1 および第 2 端子 20a, 20b と接触する。この状態では、第 1 および第 2 端子 20a, 20b を介して、作用極 31 と対極 32 の間への電圧の印加が可能とされている。実際の測定においては、濃度測定装置 2 にバイオセンサ 1 を装着した時点から、作用極 31 と対極 32 との間に定電圧が印加される。作用極 31 と対極 32 との間に印加する定電圧は、たとえば 100 ~ 1000 mV の範囲に設定される。本実施の形態では、作用極 31 と対極 32 との間への定電圧の印加は、血糖値を演算するための応答電流が測定されるまでは継続して行われているものとする。

【0035】

次いで、バイオセンサ 1 の端部開口 60 を介して血液を供給する。血液は、図 4 (a) および (b) に示したように、毛細管現象により、キャピラリ 6 の端部開口 60 から端部開口 62 に向けて内部流路 61 を進行する。血液 B の導入は、図 4 (b) に良く表れて入るように、血液 B が端部開口 62 に至り、キャピラリ 6 の内部流路 61 が血液 B によって充填されるまで行われる。その過程においては、血液 B によって試薬部 33 (図 4 (a) 参照) が溶解させられ、内部流路 61 には、液相反応系が構築される。このとき、吸水層 51 において血液 B 中の血漿成分が吸水されて吸水層 51 の厚みが大きくなる。これにより、作用極 31 の電子授受部分 (31a) の表面や周囲における血球 B1 の濃度が高くなる。

【0036】

液相反応系では、酸化還元酵素により血液 B 中のグルコースが酸化されるとと

もに電子伝達物質が還元型とされる。電圧印加状態では、還元型とされた電子伝達物質は、作用極 31 における電子授受部分 31a の表面に移動し、電子授受部分 31a に電子を供給して酸化型の電子伝達物質に戻る。電子授受部分 31a に供給された電子の量は、第 1 および第 2 端子 20a, 20b を介して電流値測定部 22 において応答電流として測定される。

【0037】

一方、電流値測定部 22 において測定された応答電流値は、検知部 23 においてモニタリングされており、応答電流値が閾値を超えた時点で、検知部 23 は試薬部 33 に血液が供給され、試薬部 33 が溶解したことを検知する。検知部 23 において血液が供給されたことが検知された場合には、この検知から一定時間経過したか否かが検知部 23 において判断される。

【0038】

検知部 23 において一定時間が経過したと判断された場合には、電流値測定部 22 において応答電流値を測定し、この応答電流値に基づいて、演算部 25 において血糖値を演算する。血糖値の演算は、応答電流値を電圧値に換算した後に、この電圧値を、予め作成しておいた電圧値と血糖値との関係を示す検量線に当てはめることにより演算される。演算部 25 における演算結果は、たとえば表示部 26 において表示される。

【0039】

本実施の形態においては、キャピラリ 6 の内部流路 61 に血液が供給された場合には、吸水層 51 において血液中の血漿成分が吸水され、作用極 31 の電子授受部分 31a の表面や周りにおける血球の濃度が高まる。これにより、電子授受部分 31a の表面や周りは、擬似的に高ヘマトクリット値の血液を供給したのと同様な状態とされる。また、吸水性高分子材料として、たとえば吸水能力が 10～500 g/g のものを使用すれば、血漿成分の割合が多い低ヘマトクリット値な血液ほど、吸水層 51 がより多くの血漿を吸水することとなる。その結果、吸水層 51 の周りにおいては、ヘマトクリット値の大小に拘わらず、同程度の高ヘマトクリット状態を達成することができる。

【0040】

バイオセンサ 1 ではさらに、測定用具において血液中の血球を分離する際の不具合を解消することができる。すなわち、血球を分離する方法では、血漿成分を分離膜に通過させる必要があるが、これが測定時間を長くし、また供給量に対して反応に使用できる血液の量が少なくなっていた。これに対してバイオセンサ 1 では、血液がキャピラリ 6 の内部流路 6 1 を進行する際に分離膜のような障害はないため、分離膜を使用する場合のように測定時間が長くなることもない。また、バイオセンサ 1 では、キャピラリ 6 の内部流路 6 1 に供給された血液の大部分を試薬部 3 3 の酸化還元酵素と反応させることができるため、微量な血液であっても適切に濃度測定を行うことができるようになる。

【0041】

作用極の電子授受部の表面や周りの血球濃度を高めるための手段は、上述した例には限定されず、たとえば図 6 ないし図 9 に示したような構成であってもよい。

【0042】

図 6 には、本発明の第 2 の実施の形態に係るバイオセンサの断面図を示した。このバイオセンサ 1 A では、吸水層 5 1 A がキャピラリ 6 の全長に亘って形成されている。この吸水層 5 1 A は、たとえば吸水性高分子材料を用いて吸水シートを形成し、この吸水シートをカバーに貼着することにより形成することができる。吸水層 5 1 A は、吸水性高分子材料を溶剤に溶かした溶液をカバーに塗布し、これを乾燥させることによっても形成することができる。

【0043】

キャピラリ 6 の全長に亘って吸水層を形成するためには、カバー 5 の全体が吸水性を有するものとして、カバー 5 の全体を吸水層として構成してもよい。このような吸水層（カバー）は、たとえば吸水性高分子材料を他の樹脂材料と混練して成形材料とし、この成形材料を用いて樹脂成形を行うことにより形成することができる。

【0044】

図 7 には、本発明の第 3 の実施の形態に係るバイオセンサの断面図を示した。このバイオセンサ 1 B では、吸水層 5 1 B が吸水性高分子の粒を備えたものとし

て構成されている。この吸水層 51B は、両面テープ 51Ba の片面に吸水性高分子の粒 51Bb を担持させた構成を有しており、両面テープのもう一方の面の粘着性を利用してカバーに貼着されている。吸水性高分子としては、重量平均粒子径が $100 \sim 1000 \mu\text{m}$ のものを使用するのが好ましい。

【0045】

図 8 には、本発明の第 4 の実施の形態に係るバイオセンサの断面図を示した。図 8 (a) に示したバイオセンサ 1C では、吸水層 51C が作用極 31 の電子授受部 31a よりも、血液の流れ方向の下流側において基板 3 上に形成されている。ただし、吸水層 51C は、カバー 5 に形成してもよい。そのため、図 8 (b) に示したように、キャピラリー 6 内に血液 B が導入されれば、吸水層 51C が膨張し、キャピラリー 6 における吸水層 51C が形成された部分の空間断面積が小さくなる。その結果、血球 B1 の移動が吸水層 51C により阻害され、血球 B1 が電子授受部 31a の付近に滞留して電子授受部 31a の周りでの血球濃度が高められる。このような作用を有効に得るためには、吸水層 51C は、キャピラリー 6 が血液により満たされたときに、吸水層 51C とキャピラリーの上面との距離 L が $0 \sim 15 \mu\text{m}$ となるように形成するのが好ましい。また、電子授受部 31a の周りにおける血球濃度をより確実に高めるためには、吸水層 51C における血液 B の流れ方向の寸法 W1 を比較的に大きく設定するのが好ましい。この場合の寸法 W1 は、キャピラリー 6 の入口端 68 から電子授受部 31a の下流側端 31a' までの距離 W2 の $1/4 \sim 1/2$ 程度に設定するのが好ましい。

【0046】

図 8 に示した吸水層 51C と同様な機能は、非（難）水溶性のダム部を設けることにより達成することもできる。つまり、血漿成分を吸水することにより膨張させて血球を滞留させるのではなく、キャピラリー 6 における電子授受部 31a の下流側の断面寸法を、ダム部を形成することによって、血液が供給される以前から予め小さくしておいてもよい。このダム部は、ダム部と基板（あるいはカバー）との距離（図 8 (b) の L に相当するもの）が、 $5 \sim 15 \mu\text{m}$ となるように形成するのが好ましい。ダム部は、基板およびカバーのいずれに形成してもよい。

【0047】

図9には、本発明の第5の実施の形態に係るバイオセンサの断面図を示した。このバイオセンサ1Dでは、吸水層51Dが作用極31の電子授受部31aを囲むようにして形成されている。吸水層51Dは、図10(a)に示したように電子授受部31aに対して上流側および下流側の2箇所配置してもよいし、図10(b)に示したように矩形枠状に形成してもよい。図10(a)に示した形態においては、2つの吸水層51Dのうち一方の吸水層51Dを省略してもよい。

【0048】

以上においては、血液中のグルコースの濃度を測定する場合を例にとって説明したが、本発明は血液中の他の成分、たとえばコレステロール、乳酸、ビリルビンなどを測定する場合にも適用でき、また血液以外の試料液に対しても適用できる。

【0049】

【実施例】

以下においては、本発明に係るバイオセンサが、応答電流値の測定において血液に含まれる血球の影響が低減されていることについて実証する。

【0050】

実施例1

(グルコースセンサの作成)

本実施例においては、図1ないし図4に示したのと同様な構成にバイオセンサを形成した。ただし、吸水層51は水溶性を有するように形成した。このバイオセンサでは、キャピラリ6の内部流路61の長さ寸法L、幅寸法W、および高さ寸法Hを、それぞれ3mm、1mm、および40 μ m(図1および図3参照)とし、内部流路61の容積を0.5 μ Lに設定した。作用極31および対極32は、カーボンインキ(日本アチソン製「Electrodag 423SS」)を用いたスクリーン印刷により形成した。試薬部33は、電子伝達層および酵素含有層からなる2層構造とした。電子伝達層は、基板3上に電子伝達物質を含む第1材料液0.4 μ Lを塗布した後に第1材料液を送風乾燥(30℃、10%Rh)することにより形成した。酵素含有層は、電子伝達層上に、酸化還元酵素を含

む第2材料液0.3 μ Lを塗布した後に第2材料液を送風乾燥(30℃、10% R h)することにより形成した。

【0051】

第1材料液は、下記表1の①～④を番号通りの順序で混合した混合液を1～3日放置した後、この混合液に電子伝達物質を添加することにより調製した。第2材料液は、酸化還元酵素を0.1%CHAPSに溶解させることにより調製した。

【0052】

電子伝達物質としては、 $[Ru(NH_3)_6]Cl_3$ (同仁化学研究所製「LM72」)を使用し、酸化還元酵素としては、PGGDH(グルコース脱水素活性が800 U/mg)を使用した。PQQGDHは、PQQ(ピロキノリンキノン)を補酵素とするものである。

【0053】

【表1】

第1材料液の組成(電子伝達物質を除く)

①SWN 溶液		②CHAPS 溶液		③蒸留 水	④ACES 溶液	
濃度	容量	濃度	容量		濃度	容量
1.2%	250 μ L	10%	25 μ L	225 μ L	200mM	500mL

【0054】

表1などにおいて、SWNはルーセントタイトSWNの略号であり、CHAPSは3-[(3-choamidopropyl)dimethylammonio]-1-propanesulfonateの略号であり、ACESはN-(2-acetamido)-2-aminoetanesulfonic acidの略号である。SWNとしてはコープケミカル(株)製「3150」を使用し、CHAPSとしては同仁化学研究所製「KC062」を使用し、ACESとしては同仁化学研究所製「ED067」を使用した。なお、ACES溶液はpHが7.5となるように調製した。

【0055】

吸水層51は、吸水性高分子を含む塗布材をカバー5の目的部位に0.1 μ L

塗布した後に塗布材を送風乾燥（30℃、10%Rh）することにより、膜厚が2μmとなるように形成した。塗布材としては、メタノール100重量部に対して吸水性高分子（住友精化（株）製「アクアコーク」）7重量部を溶解させたものを使用した。

【0056】

本実施例においては、上記した構成のバイオセンサを用いて、グルコース濃度が447mg/dLで、ヘマトクリット値の異なる3種類の血液（Hct20%、Hct42%、Hct69%）について、応答電流値のタイムコースを測定した。各ヘマトクリット値の血液については、5回ずつ応答電流値を測定した。このとき、バイオセンサ1の流路61に対する血液供給量は0.5μLとし、作用極31と対極32との間への印加電圧は、500mVとした。その結果を図11に示した。一方、血液の供給から5秒後の応答電流値に基づいて、Hct値の影響を検討した。その結果を図13に示した。図13においては、横軸はHct値（%）を、縦軸はHct42%のときの応答電流値を基準とした場合のこの応答電流値からのずれ量（Bias（%））で示した。応答電流値のずれ量（Bias（%））は、5回の測定の平均値として示してある。

【0057】

比較例1

本比較例においては、実施例1のバイオセンサにおいて吸水層を省略した形態のバイオセンサを使用し、実施例1と同様にしてヘマトクリット値の異なる3種類の血液について応答電流値のタイムコースを測定した。各ヘマトクリット値の血液については、5回ずつ応答電流値を測定した。その結果を図12に示した。一方、血液の供給開始から5秒後の応答電流値に基づいて、実施例1と同様にしてHct値の影響を検討した。その結果を図14に示した。

【0058】

実験結果の考察

図11および図12を参照すれば分かるように、Hct値の異なる血液を測定した場合、実施例1のバイオセンサは、比較例1のバイオセンサに比べてより速く応答電流値が収束する傾向がある。具体的には、第1に、たとえば応答電流値

の5秒値に着目すれば分かるように、実施例1のバイオセンサでは、比較例1のバイオセンサに比べてHct値が20%の場合とHct値が69%の場合との応答電流値の差が小さくなっており、第2に、実施例1のバイオセンサでは、8秒程度で各サンプルの応答電流値が均一化しているのに対して、比較例1のバイオセンサでは、各サンプル応答電流値が均一化するのに15秒程度必要となっている。この結果は、実施例1のバイオセンサは、比較例1のバイオセンサに比べて短い測定時間においても適切に濃度測定を行えることを意味している。また、実施例1および比較例1のバイオセンサは、キャピラリ6の内部流路61の容積が $0.5\mu\text{L}$ と小さいため、実施例1のバイオセンサは微量な血液を精度良く測定できるといえる。

【0059】

なお、実施例1のバイオセンサは、比較例1のバイオセンサに比べて再現性が低くなっているが、これは、吸水層51の形成時に塗布材の塗布を手操作によって行ったため、吸水層51に形成状態にバラツキがあったためであると思われる。したがって、均質な吸水層51を形成すれば、再現性は改善されるものと思われる。

【0060】

図13および図14から分かるように、Hct値が20～69%の範囲では、血液の供給開始から5秒後の応答電流値に関して、実施例1のバイオセンサではBiasが+5%程度になっているのに対して、比較例1のバイオセンサではBiasが±20%程度になっている。すなわち、実施例1のバイオセンサは、比較例1のバイオセンサに比べてHct値が応答電流値に与える影響が小さくなっている。この結果からは、実施例1のバイオセンサのように吸水層51を設ければ血液のHct値の影響が低減されることが分かる。

【0061】

【発明の効果】

以上に説明したように、本発明に係る試料調整測定用具では、試料液中の固体成分の影響を抑制し、測定時間を短く維持しつつも、少ない試料液によって精度良く濃度測定を行うことができる。

【図面の簡単な説明】**【図 1】**

本発明の第 1 の実施の形態に係るバイオセンサの全体斜視図である。

【図 2】

図 1 に示したバイオセンサの分解斜視図である。

【図 3】

図 1 の III-III 線に沿う断面図である。

【図 4】

バイオセンサの内部流路での血液の移動状態を説明するための図 3 に相当する断面図である。

【図 5】

図 1 ないし図 3 に示したバイオセンサを濃度測定装置に装着した状態を示す模式図である。

【図 6】

本発明の第 2 の実施の形態に係るバイオセンサを示す図 3 に相当する断面図である。

【図 7】

本発明の第 3 の実施の形態に係るバイオセンサを示す図 3 に相当する断面図である。

【図 8】

本発明の第 4 の実施の形態に係るバイオセンサを示す図 3 に相当する断面図である。

【図 9】

本発明の第 5 の実施の形態に係るバイオセンサを示す図 3 に相当する断面図である。

【図 10】

図 9 に示したバイオセンサからカバーおよびスペーサを取り除いた状態を示す斜視図である。

【図 11】

実施例 1 のバイオセンサにおける応答電流値のタイムコースを示すグラフである。

【図 1 2】

比較例 1 のバイオセンサにおける応答電流値のタイムコースを示すグラフである。

【図 1 3】

実施例 1 のバイオセンサにおけるヘマトクリット値の影響を示すグラフである。

【図 1 4】

比較例 1 のバイオセンサにおけるヘマトクリット値の影響を示すグラフである。

【符号の説明】

1, 1 A ~ 1 D バイオセンサ (試料調整測定用具)

3 基板

3 1 作用極 (第 1 の電極)

3 1 a 電子授受部

3 2 対極 (第 2 の電極)

5 カバー

5 1, 5 1 A ~ 5 1 D 吸水層

6 1 内部流路

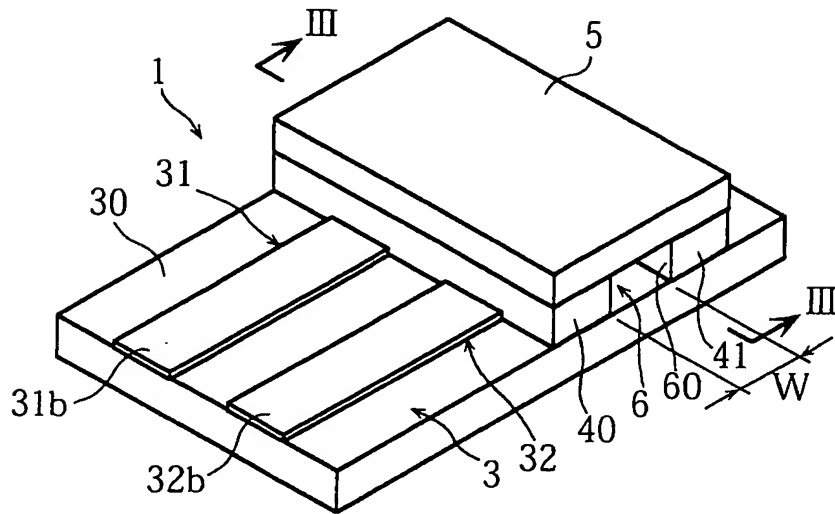
B 血液

B 1 血球

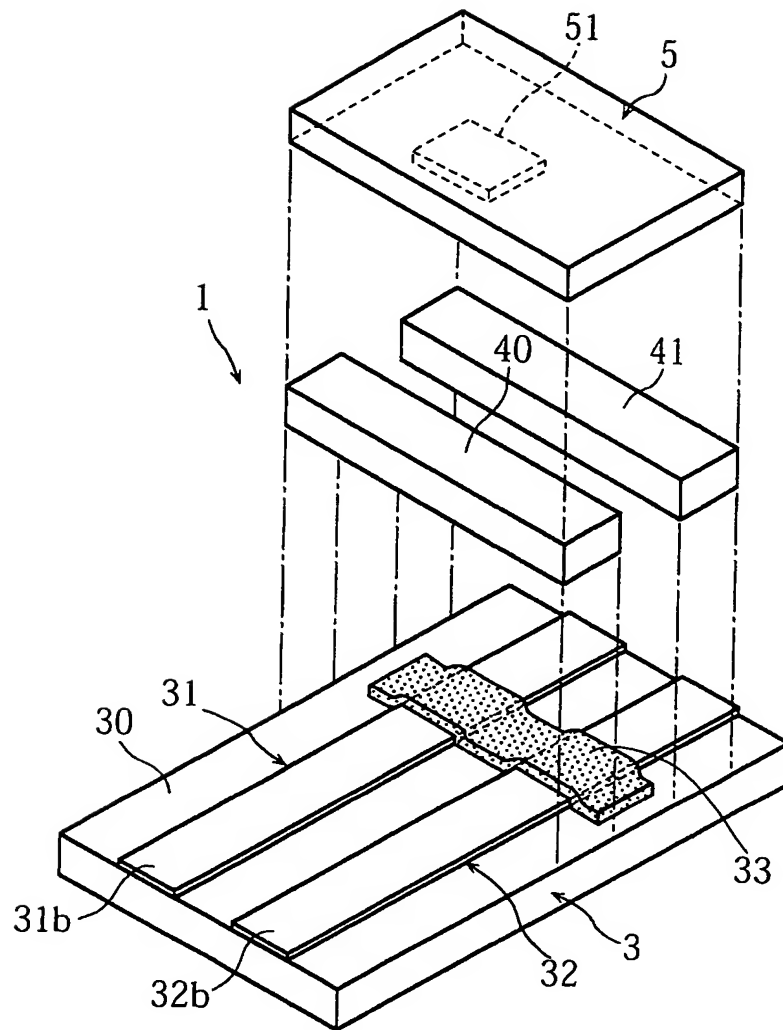
【書類名】

図面

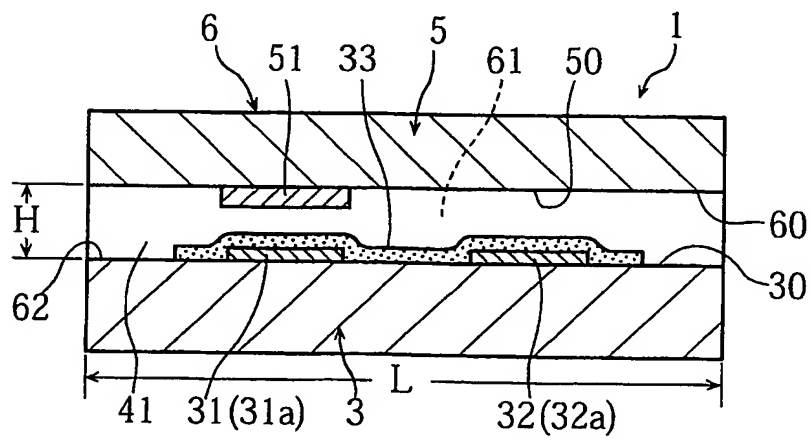
【図 1】



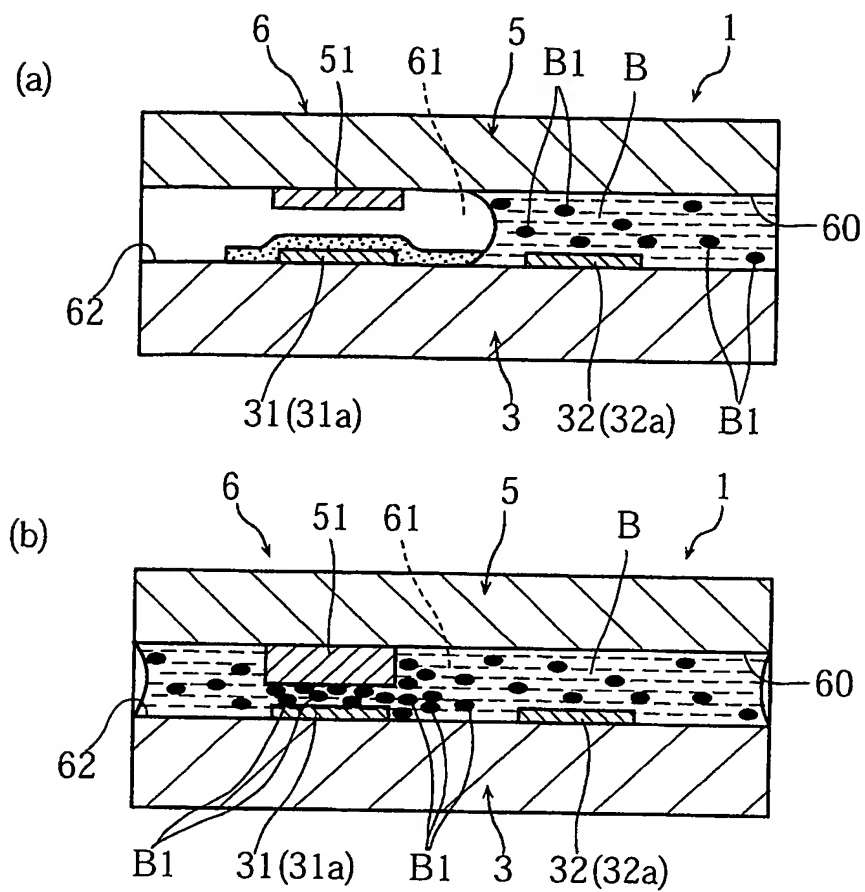
【図 2】



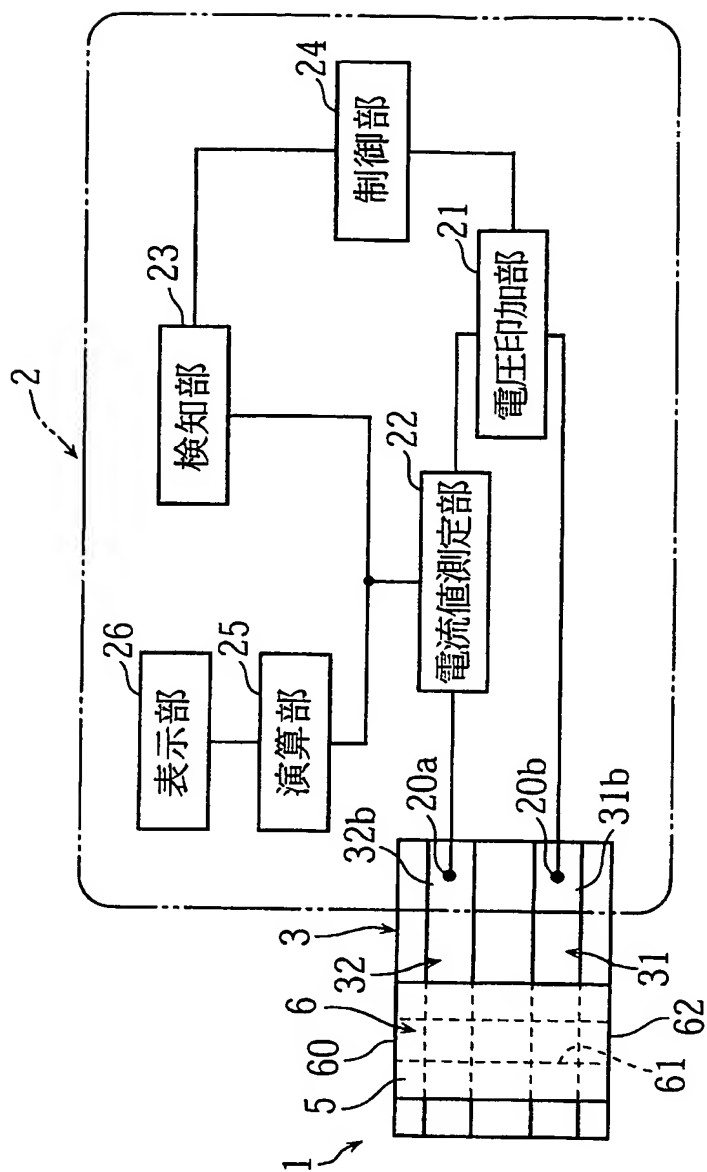
【図 3】



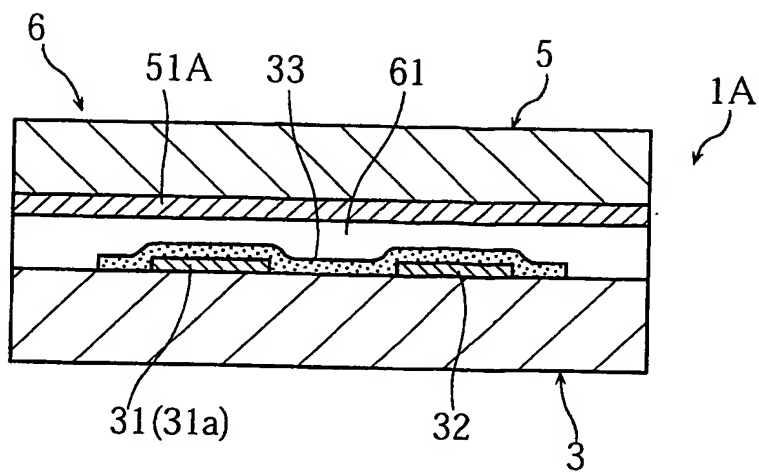
【図 4】



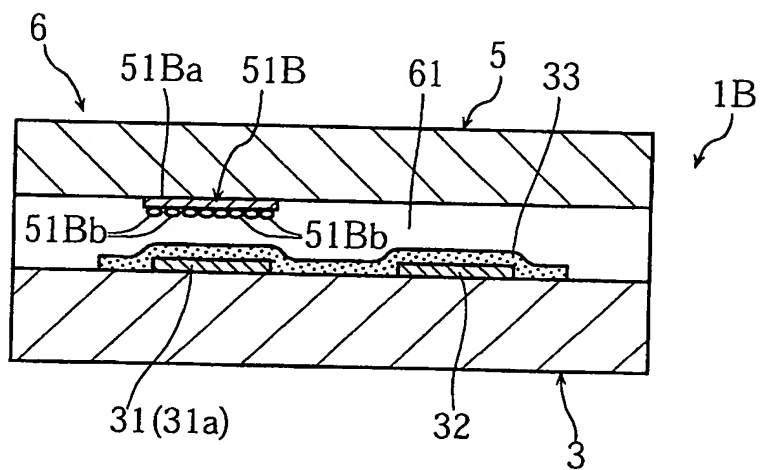
【図 5】



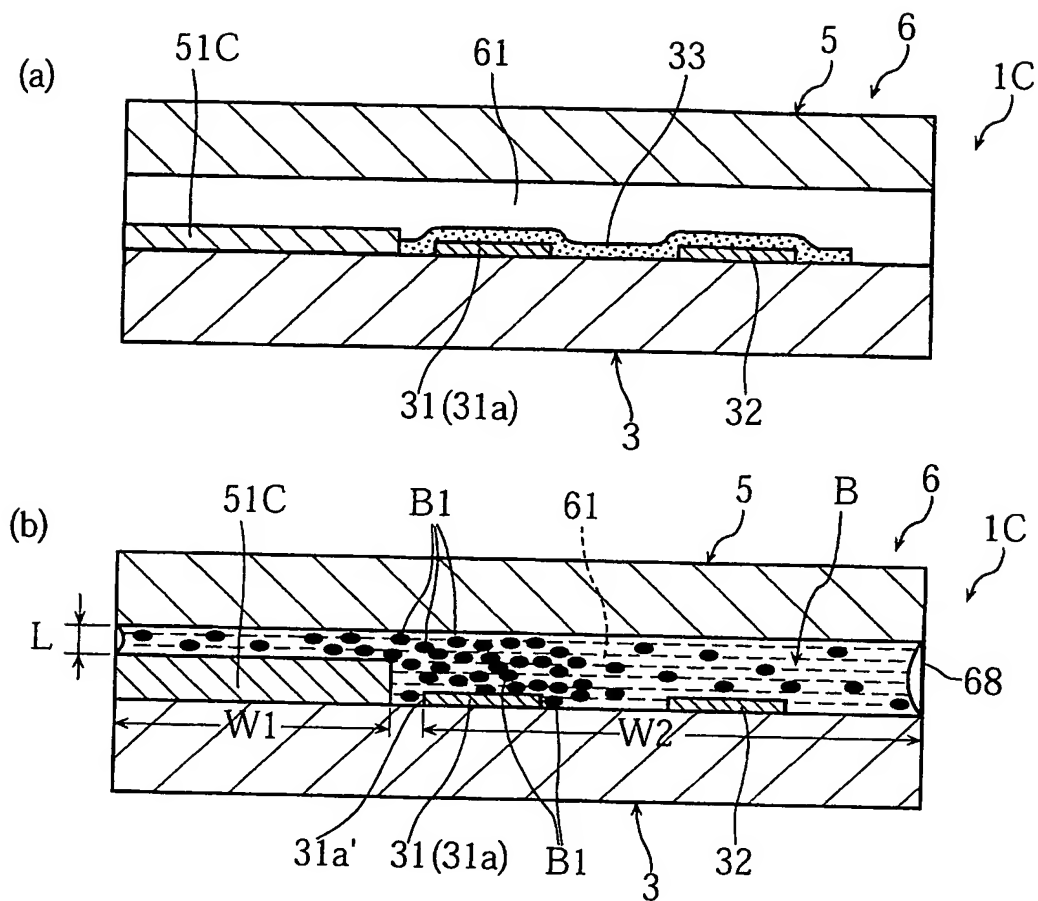
【図 6】



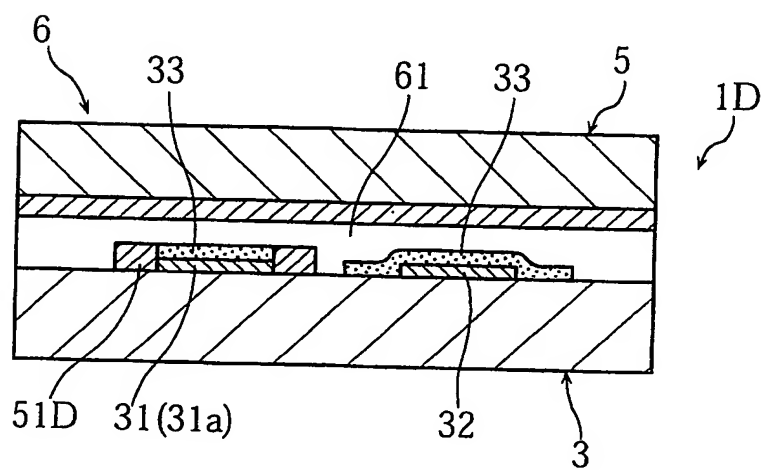
【図 7】



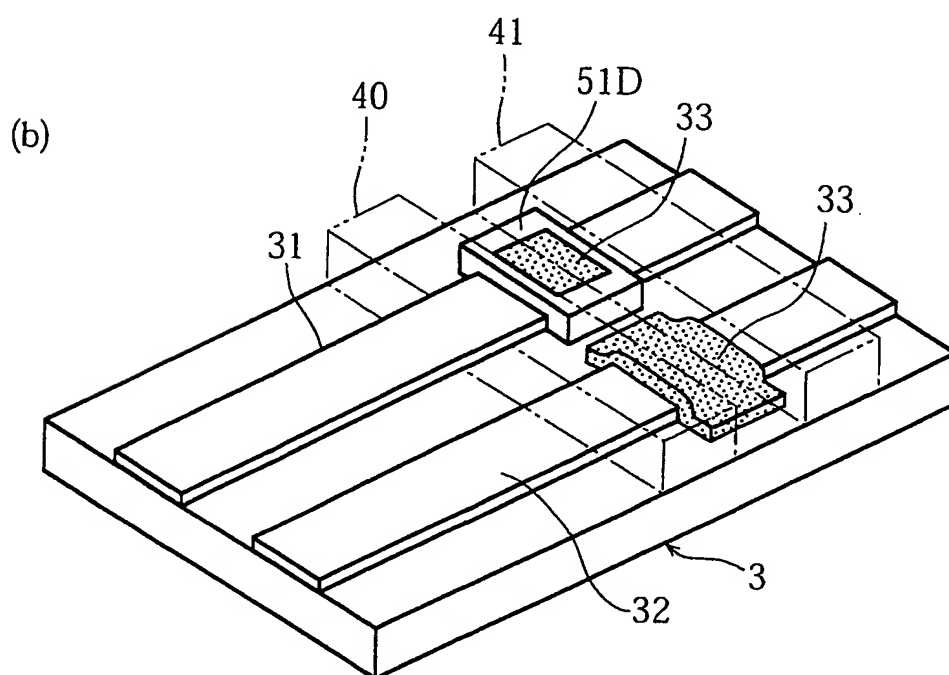
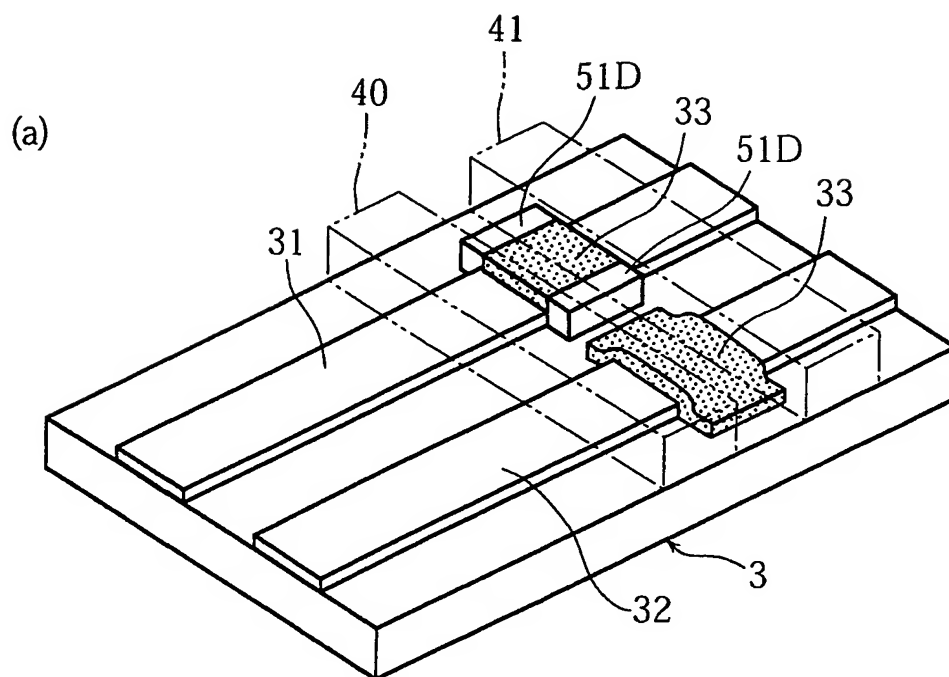
【図 8】



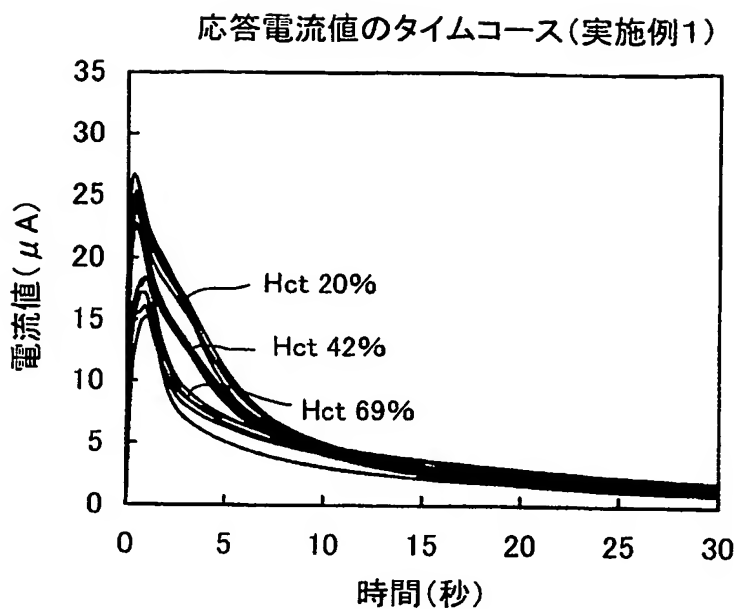
【図 9】



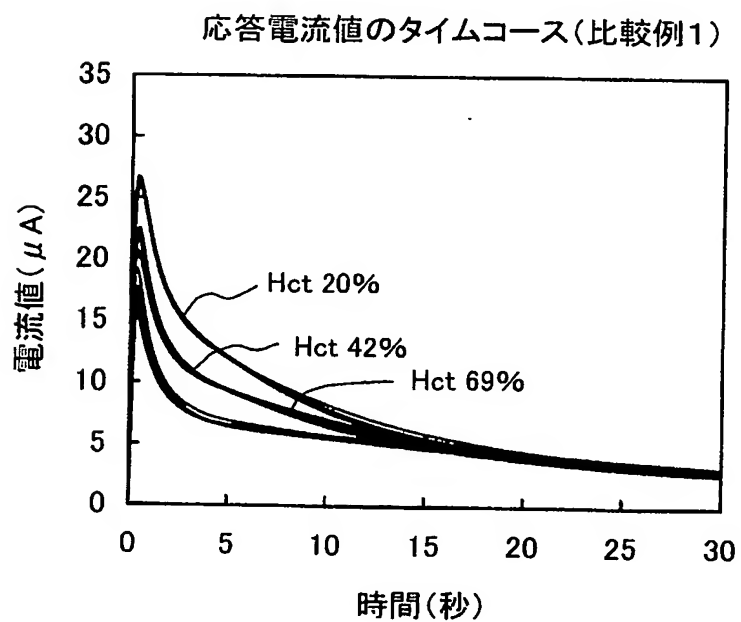
【図 10】



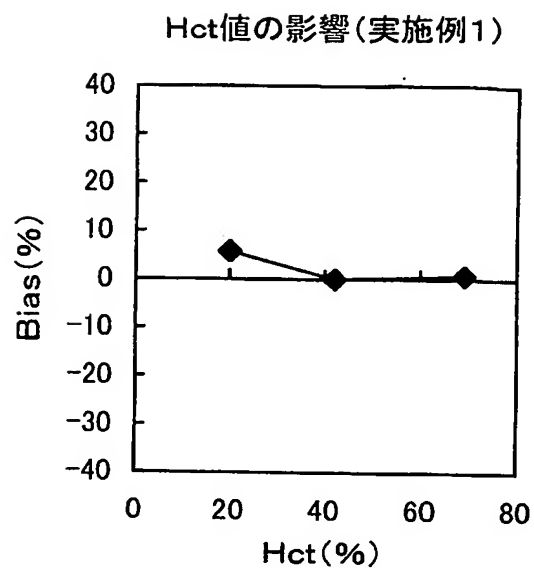
【図 1 1】



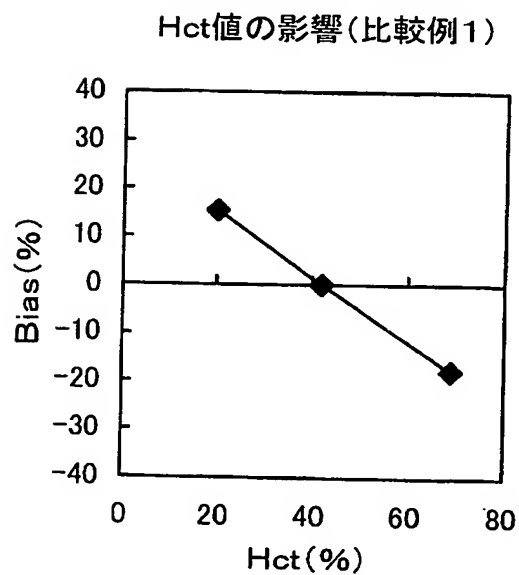
【図 1 2】



【図 13】



【図 14】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 試料液中の固体成分の影響を抑制し、測定時間を短く維持しつつも、少ない試料液によって精度良く濃度測定を行う。

【解決手段】 固体成分を含んだ試料液を移動させ、かつ液相反応場を提供するための流路 61 と、液相反応場に対して電圧を印加するための第 1 および第 2 の電極 31, 32 と、を備え、第 1 の電極 31 が、第 1 および第 2 の電極 31, 32 を介して液相反応場に対して電圧を印加したときに、液相反応場に対して電子を供給し、あるいは液相反応場から電子を受け取るための電子授受界面 31a を有する分析用具 1 において、少なくとも液相反応場における電子授受界面 31a と接触する部分における固体成分の濃度を高めるための固体成分高濃度化手段 51 を備えた。

【選択図】 図 3

特願 2 0 0 2 - 3 2 0 2 9 5

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[0 0 0 1 4 1 8 9 7]

1. 変更年月日
[変更理由]

2 0 0 0 年 6 月 1 2 日

名称変更

住 所
氏 名

京都府京都市南区東九条西明田町 5 7 番地
アークレイ株式会社